



006843003621

PATENT APPLICATION

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of:)	
	:	Examiner: Not Yet Assigned
YASUYUKI NUMAJIRI ET AL.)	
	:	Group Art Unit: 1645
Application No.: 10/811,916)	
	:	
Filed: March 30, 2004)	
	:	
For: BIOCHEMICAL REACTION)	
CARTRIDGE	:	July 8, 2004

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENTS

Sir:

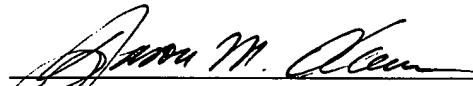
In support of Applicants' claim for priority under 35 U.S.C. § 119, enclosed
are certified copies of the following foreign applications:

JP 2003-094242, filed March 31, 2003; and

JP 2004-017015, filed January 26, 2004.

Applicants' undersigned attorney may be reached in our New York office by telephone at (212) 218-2100. All correspondence should continue to be directed to our address given below.

Respectfully submitted,



Jason M. Okun
Attorney for Applicants
Registration No. 48,512

FITZPATRICK, CELLA, HARPER & SCINTO
30 Rockefeller Plaza
New York, New York 10112-3801
Facsimile: (212) 218-2200

NY_MAIN 439059v1

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 4 年 1 月 2 6 日
Date of Application:

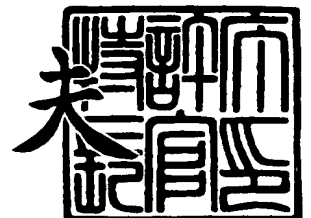
出 願 番 号 特 願 2 0 0 4 - 0 1 7 0 1 5
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 4 - 0 1 7 0 1 5]

出 願 人 キヤノン株式会社
Applicant(s):

2 0 0 4 年 4 月 1 9 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



【書類名】 特許願
【整理番号】 5522036-01
【提出日】 平成16年 1月26日
【あて先】 特許庁長官 殿
【国際特許分類】 G01N 33/00
【発明者】
 【住所又は居所】 東京都大田区下丸子3丁目30番2号キャノン株式会社内
 【氏名】 清水 英
【発明者】
 【住所又は居所】 東京都大田区下丸子3丁目30番2号キャノン株式会社内
 【氏名】 伊藤 宏
【発明者】
 【住所又は居所】 東京都大田区下丸子3丁目30番2号キャノン株式会社内
 【氏名】 田中 信也
【発明者】
 【住所又は居所】 東京都大田区下丸子3丁目30番2号キャノン株式会社内
 【氏名】 沼尻 泰幸
【特許出願人】
 【識別番号】 000001007
 【住所又は居所】 東京都大田区下丸子3丁目30番2号
 【氏名又は名称】 キャノン株式会社
 【代表者】 御手洗 富士夫
【代理人】
 【識別番号】 100090538
 【住所又は居所】 東京都大田区下丸子3丁目30番2号キャノン株式会社内
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 西山 恵三
 【電話番号】 03-3758-2111
【選任した代理人】
 【識別番号】 100096965
 【住所又は居所】 東京都大田区下丸子3丁目30番2号キャノン株式会社内
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 内尾 裕一
 【電話番号】 03-3758-2111
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 011224
 【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 図面 1
 【物件名】 要約書 1
 【包括委任状番号】 9908388

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

少なくとも 1 つのチャンバおよび複数の流路を含む反応部分と、該反応部分と隔離又は別体にして前記反応部分のチャンバと対応する位置に溶液を蓄える複数の貯蔵用チャンバを含む溶液貯蔵部分と、該前記溶液貯蔵部分と前記反応部分との間に貫通可能な仕切り部材と、を有する生化学反応カートリッジを用いた生化学反応処理方法であって、

少なくとも 1 つの前記仕切り部材を貫通させ、対応する貯蔵用チャンバ内の溶液を対応する反応部分のチャンバへ移動する第一のステップ、該反応部分のチャンバへ移動された溶液を用いて処理を行う第二のステップ、第一のステップで選択的に利用した仕切り部材以外の少なくとも 1 つの第二の仕切り部材を選択的に貫通させ、前記第一のステップで溶液を移動した貯蔵用チャンバ以外の貯蔵用チャンバ内の溶液を対応する反応部分のチャンバへ移動する第三のステップ、

前記第三のステップで移動された貯蔵用チャンバの溶液を用いて処理を行う第四のステップ、を有することを特徴とする、生化学反応処理方法。

【請求項 2】

少なくとも 1 つのチャンバおよび複数の流路を含む反応部分と、

該反応部分と隔離又は別体にして前記反応部分のチャンバと対応する位置に溶液を蓄える複数の貯蔵用チャンバを含む溶液貯蔵部分と、該溶液貯蔵部分から溶液を前記反応部分のチャンバに移動させるための前記溶液貯蔵部分と前記反応部分との間に貫通可能な仕切り部材と、前記仕切り部材の貫通順序を含む処理シーケンスに関する情報を表すコードとを有することを特徴とする生化学反応カートリッジ。

【請求項 3】

前記コードはカートリッジの種別を表す識別コードであることを特徴とする請求項 2 に記載の生化学反応カートリッジ。

【請求項 4】

前記コードは仕切り部材の貫通順序を含む処理シーケンスを表すコードであること、を特徴とする請求項 2 に記載の生化学反応カートリッジ。

【請求項 5】

少なくとも 1 つのチャンバおよび複数の流路を含む反応部分と、

該反応部分と隔離又は別体にして前記反応部分のチャンバと対応する位置に溶液を蓄える複数の貯蔵用チャンバを含む溶液貯蔵部分と、該溶液貯蔵部分から溶液を前記反応部分のチャンバに移動させるための前記溶液貯蔵部分と前記反応部分との間に貫通可能な仕切り部材と、を有する生化学反応カートリッジを収納する収納部と、該収納部に収容された生化学反応カートリッジの前記仕切り部材を貫通する貫通手段を駆動する駆動部材と、記生化学反応カートリッジに作用してカートリッジ内の検体を反応処理する反応処理手段とを有する生化学反応処理装置において、前記駆動部材と前記反応処理手段を逐次駆動するための駆動装置を有することを特徴とする生化学反応処理装置。

【請求項 6】

前記貫通手段はカートリッジ内に具備されていること、を特徴とする請求項 5 に記載の装置。

【請求項 7】

前記貫通手段は処理装置に具備されていること、を特徴とする請求項 5 に記載の装置。

【請求項 8】

前記貫通手段は交換可能であることを特徴とする請求項 7 に記載の装置。

【請求項 9】

記生化学反応カートリッジは、前記仕切り部材の貫通順序を含む処理シーケンスを表すコードを有するとともに、前記生化学反応処理装置は該コードを読み取るコード読み取り手段を有し、前記駆動制御装置は該コード読み取り手段の出力を元に前記駆動装置を駆動する、ことを特徴とする請求項 5 に記載の装置。

【請求項 10】

前記生化学反応カートリッジは、カートリッジの種別を表すコードを有し前記識別コード毎に前記駆動部材の駆動順序をあらかじめ記憶する記憶手段を有し、前記駆動制御装置は前記識別コード読み取り手段の出力を元に該記憶手段から情報を読み出し前記駆動装置を駆動することを特徴とする請求項 5 に記載の装置。

【書類名】明細書

【発明の名称】生化学反応カートリッジ

【技術分野】

【0001】

本発明は、検体中の細胞、微生物、或いは染色体、核酸などを、抗原抗体反応や核酸ハイブリダイゼーション反応などの生化学反応を利用して分析する装置に組み込んで用いる生化学反応カートリッジに関するものである。

【背景技術】

【0002】

血液等の検体の分析装置の多くは、抗原抗体反応を利用した免疫学的方法、又は核酸ハイブリダイゼーションを利用した方法を用いている。このような分析方法の例を挙げると、被検出物質と特異的に結合する抗体又は抗原などのタンパク質或いは一本鎖の核酸をプローブとして使い、微粒子、ビーズ、ガラス板などの固相表面に固定し、被検出物質と抗原抗体反応又は核酸ハイブリダイゼーションを行わせる。

【0003】

そして、酵素、蛍光性物質、発光性物質などの検知感度の高い標識物質を担持した特異的な相互作用を持つ標識化物質、例えば標識化抗体や標識化抗原又は標識化核酸などを用いて、抗原抗体化合物や二本鎖の核酸を検出して、被検物質の有無を検出又は被検物質の定量を行うものである。

【0004】

これらの技術を発展させたものとして、米国特許 5,445,934 号公報には、互いに異なる塩基配列を有する多数の DNA（デオキシリボ核酸）プローブを基板上にアレイ状に並べた所謂 DNA アレイが記載されている。また、Anal. Biochem.、270（1）、103-111、1999 年には、多種類のタンパク質をメンブレンフィルタ上に並べ、DNA アレイのような構成のタンパク質アレイの作製方法が開示されている。そして、DNA アレイ、タンパク質アレイなどによって、極めて多数の項目の検査を一度に行うことが可能になってきている。

【0005】

また、様々な検体分析方法において、検体による汚染の軽減、反応の効率化、装置の小型化、作業の簡便化などの目的で、内部で必要な反応を行う使い捨ての生化学反応カートリッジも提案され、特表平 11-509094 号公報には、DNA アレイを含む生化学反応カートリッジ内に複数のチャンバを配し、差圧によって溶液を移動させ、カートリッジ内部で検体中の DNA の抽出或いは増幅、又はハイブリダイゼーションなどの反応を可能とした生化学反応カートリッジが開示されている。

【0006】

生化学反応カートリッジでの試薬の供給方法として、特開 2000-266759 号公報には使い捨ての分析カセットに外部の試薬ボトルから試薬を供給することが開示されており、特表平 11-509094 号公報にはチャンバ内に試薬を前もって内蔵することの開示がある。

【0007】

しかしながら、外部から試薬を供給する場合には、生化学反応カートリッジとは別に複数の試薬を用意しなければならず、更に検査項目が多いと必要な試薬の種類も多くなり、補充が煩わしくなるだけでなく、試薬の種類を間違える虞れがある。

【特許文献 1】特開 2000-266759

【特許文献 2】特表平 11-509094

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明の目的は、上述の問題点を確実に解消し、試薬の補充の煩わしさ、試薬の種類、処理順序の間違いのおそれがなく、かつ保存時、運搬時、処理時に環境変化や振動があっ

でもチャンバ内の試薬が流路や他のチャンバに流れ込むことのない生化学反応カートリッジを提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0009】

上述の課題を解決するために本発明では、少なくとも1つのチャンバおよび複数の流路を含む反応部分と、該反応部分と隔離又は別体にして前記反応部分のチャンバと対応する位置に溶液を蓄える複数の貯蔵用チャンバを含む溶液貯蔵部分と、該前記溶液貯蔵部分と前記反応部分との間に貫通可能な仕切り部材と、を有する生化学反応カートリッジを用いた生化学反応処理方法であって、少なくとも1つの前記仕切り部材を貫通させ、対応する貯蔵用チャンバ内の溶液を対応する反応部分のチャンバへ移動する第一のステップ、該反応部分のチャンバへ移動された溶液を用いて処理を行う第二のステップ、第一のステップで選択的に利用した仕切り部材以外の少なくとも1つの第二の仕切り部材を選択的に貫通させ、前記第一のステップで溶液を移動した貯蔵用チャンバ以外の貯蔵用チャンバ内の溶液を対応する反応部分のチャンバへ移動する第三のステップ、前記第三のステップで移動された貯蔵用チャンバの溶液を用いて処理を行う第四のステップ、を有することを特徴とする生化学反応処理方法である。

【0010】

その他の目的及び解決手段は以下の実施例で詳細に述べる。

【発明の効果】

【0011】

以上説明したように本発明に係る生化学反応カートリッジは、チャンバ・流路を含む反応部分と、反応部分と隔離されて或いは反応部分と別体で試薬・洗浄剤などの溶液を蓄える溶液貯蔵部分とを有し、溶液を溶液貯蔵部分から反応部分に移動するために隔離している部材が貫通できる又は溶液貯蔵部分と反応部分とを接触させてそれらの壁面が貫通できる部材で構成され、各処理ステップの直前に、各溶液を生化学反応カートリッジ内に準備できるので、他の溶液を用いた処理ステップの最中の環境変化や振動でもチャンバ内の試薬が流路や他のチャンバに流れ込むことがなく、意図する反応を正しく起こさせ得るという利点がある。

【0012】

特に、溶液貯蔵部の各溶液を使用する直前に反応部分へ移動させる工程としているため、各ステップの処理中に処理装置の振動または圧力の制御誤差などがあっても近隣のチャンバや流路へ流れ込むことなく確実な反応を行うことができる。

【0013】

また、処理装置がカートリッジに貼付されたバーコードリーダーを自動的に読み取り、カートリッジの種類の判別を行い必要な処理ステップを自動設定するため、操作者はカートリッジの種類が複数あってもその度に複雑な処理順序の設定を行う必要がなく、簡易に、かつ確実に処理を行うことができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

本発明を図示の第1の実施の形態に基づいて詳細に説明する。

【0015】

図1は本実施の形態における生化学反応カートリッジの斜視図を示している。カートリッジは反応が行われる反応部分1と、その上に配置され試薬・洗浄剤などの溶液を貯蔵する溶液貯蔵部分2の2層構造とされている。反応部分1と溶液貯蔵部分2の本体は、ポリメタクリル酸メチル(PMMA)、アクリルニトリル-ブタジエン-スチレン(ABS)共重合体、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリエステル、ポリ塩化ビニルなどの合成樹脂で構成されている。反応物についての光学的な測定を行う場合は、反応部分1には透明又は半透明のプラスチックが必要になる。

【0016】

反応部分1の上部には、注射器を用いて血液等の検体を注入する検体入口3が設けられ

、この検体入口3はゴムキャップにより封止されている。また、反応部分1の両側面には、反応部分1内の溶液を移動するために、ノズルを挿入して加圧或いは減圧を行うための複数のノズル入口4が設けられ、これらのノズル入口4はゴムキャップにより封止され、反対側の面も同じ構成になっている。

【0017】

また、溶液貯蔵部分2の上部には、後述する溶液貯蔵チャンバの上部を塞ぐための3枚のアルミ箔シート5が貼り付けられている。そして、反応部分1と溶液貯蔵部分2は超音波により溶着されている。なお、反応部分1と溶液貯蔵部分2は別体の構成にして、使用時に重ね合わせるようにしても良い。

【0018】

カートリッジの側面にはカートリッジの種類識別のためのバーコードラベル40が貼られている。このカートリッジが後述する処理装置にセットされるとバーコードが読み取られ、その結果によりカートリッジの種類が判別され、適切な処理順序を行うように処理装置の設定が自動的になされる。

【0019】

図2は図1の溶液貯蔵部分2の平面断面図を示し、溶液が入った独立したチャンバ6a～6mが設けられ、チャンバ6a、6bにはそれぞれ細胞壁を壊すEDTAを含む第1の溶血剤、界面活性剤などのタンパク質変性剤を含む第2の溶血剤が蓄積されている。チャンバ6cにはDNAが吸着するシリカコーティングされた磁性体粒子が蓄積され、チャンバ6l、チャンバ6mには、DNAの抽出の際にDNAの精製を行うために用いる第1、第2の抽出洗浄剤が蓄積されている。

【0020】

チャンバ6dにはDNAを磁性体粒子から溶出する低濃度塩のバッファから成る溶出液、チャンバ6gにはPCRに必要なプライマ、ポリメラーゼ、dNTP溶液、バッファ、蛍光剤を含むCy-3 dUTPなどの混合液が充填されている。チャンバ6h、6jには、ハイブリダイゼーションしなかった蛍光標識付きの検体DNAと蛍光標識とを洗浄するための界面活性剤を含む洗浄剤、チャンバ6iには後述するDNAマイクロアレイを含むチャンバ内を乾燥させるためのアルコールが蓄積されている。そして、各チャンバ6a～6mには後述するシートを貫通するための尖った弁棒7a～7mが付設されている。

【0021】

図3は生化学反応カートリッジの保存時の状態を示した断面図であり、溶液が入った溶液貯蔵部分2のチャンバ6には切欠き8を持つ弁棒7が挿入され、2個のOリング9により保持されている。溶液チャンバ6の下部はアルミ箔シート10により塞がれ、チャンバ6と反応部分1のチャンバ11間には空気が出入りできないようにするシール材12が介在されている。環境による溶液、空気の体積変化や圧力の変化は、アルミ箔シート10の変形で吸収できるようにされており、不時にチャンバ6の溶液が反応部分1に浸入することはない。

【0022】

図4は検査者が血液等の液体状の検体を検体入口3から注入し、後述する処理装置にセットすると、処理装置のロボットアーム（不図示）が工具用ニードル13の短い押圧棒13aを用いて1段目に弁棒7を押し込んで、アルミ箔シート10を破り、溶液がチャンバ6からチャンバ11に移動を始めた状態である。この状態では、弁棒7に設けた切欠き8は2個のOリング9の上下につながっているため、チャンバ6内と外部とで空気が通じ溶液は円滑に移動することができる。

【0023】

このように、仕切り部材として貫通可能なアルミ箔シート10を有しているため、工具用ニードル13の押圧棒13aを反応部分1側に押し込むだけで、工具用ニードル13が触れることなく、極めて簡単に溶液をチャンバ6からチャンバ11内に流し込むことができる。なお、本実施の形態では、溶液貯蔵部分2のチャンバの位置の真下に反応部分1の対応するチャンバがあるが、流路を形成するなどして対応するチャンバが真下になくても

構わない。

【0024】

また、本実施例の形態では反応部分1のチャンバと溶液貯蔵部分2のチャンバは一対一に対応しているが、反応部分1の1つのチャンバに対して複数の溶液貯蔵用チャンバを配置しても良い。また、本実施例の形態では溶液貯蔵用チャンバから反応部分1の空のチャンバに溶液を移動しているが、溶液貯蔵用チャンバから処理中の検体や溶液が既に入っている反応部分1のチャンバに直接溶液を移動する構成としても良い。さらに、本実施例では仕切り部材としてアルミ箔シートを用いているが、仕切り部材自身は貫通しない部材でそれに一般的な弁を加え、その弁を貫通すなわち開にして溶液を流し込んでも良い。

【0025】

次に、処理装置はロボットアームを用いて工具用ニードル13を一旦抜き取り、図5に示すように逆さにして長い側の押圧棒13bによる2段目の押し込みによって、更に弁棒7を押し下げる。すると、上側のOリング9により空気は密閉され、後述する反応部分1内での溶液の移動が可能になる。このように、工具用ニードル13を用いて1段目の押し込みで溶液を流し込み、2段目の押し込みにより密閉できるので、押し込みという簡単な動作だけで、溶液のチャンバ11への流し込み、密閉という2つの作業が同時に実行できる。

【0026】

図6は反応部分1の平面断面図である。片側の側面には10個のノズル入口4a~4jが設けられ、反対側の側面にも10個のノズル入口4k~4tが設けられている。各ノズル入口4a~4tは空気が流れる空気流路14a~14tを介して、溶液を貯蔵する場所或いは反応を起こす場所であるチャンバ11a~11tに連通している。ただし、ノズル入口4n、4p、4q、4sは本実施の形態の工程では使用しないので、チャンバに連通しておらず予備になっている。

【0027】

つまりは、ノズル入口4a~4jは流路14a~14jを介してチャンバ11a~11jに連通して、反対側のノズル入口4k、4l、4m、4o、4r、4tは、それぞれ流路14k、14l、14m、14o、14r、14tを介して、チャンバ11k、11l、11m、11o、11r、11tに連通している。

【0028】

そして、検体入口3はチャンバ16に連通され、チャンバ11a、11b、11c、11kはチャンバ16に、チャンバ11g、11oはチャンバ17に、チャンバ11h、11i、11j、11r、11tはチャンバ18に連通している。更に、チャンバ16は流路19を介してチャンバ17に、チャンバ17は流路20を介してチャンバ18に連通している。流路19にはチャンバ11d、11e、11f、11l、11mが、それぞれ流路15d、15e、15f、15l、15mを介して連通している。

【0029】

また、チャンバ18の底面には角孔が設けられ、この角孔にガラス基板で作製されたDNAマイクロアレイ21が、プローブ面を上にして貼り付けられている。DNAマイクロアレイ21には、1インチ四平方程度のガラス板等の固相表面に、異なる種類のDNAプローブが数10~数10万種高密度に並べられている。このDNAマイクロアレイ21を用いて検体DNAとハイブリダイゼーション反応を行うことによって、一度に数多くの遺伝子の検査ができる。また、これらのDNAプローブはマトリックス状に規則正しく並んでおり、それぞれのDNAプローブのアドレス（何行・何列）を情報として、容易に取り出せるという利点がある。検査の対象となる遺伝子としては、感染症ウイルス・細菌、疾患関連遺伝子の他に各個人の遺伝子多型等がある。

【0030】

反応部分1のチャンバ11a、11bには、それぞれ溶液貯蔵部分2のチャンバ6a、6bから移動される第1の溶血剤、第2の溶血剤が蓄積される。チャンバ11cには、チャンバ6cから移動される磁性体粒子が蓄積され、チャンバ11l、チャンバ11mには

、それぞれチャンバ 6 l、チャンバ 6 m から移動される第 1、第 2 の抽出洗浄剤が蓄積される。チャンバ 11 d には、チャンバ 6 d から流れる溶出液、チャンバ 11 g には、チャンバ 6 g から移動される PCR (Polymerase Chain Reaction) で必要な混合液が充填されている。チャンバ 11 h、11 j には、それぞれチャンバ 6 h、6 j から移動される洗浄剤、チャンバ 11 i には、チャンバ 6 i から移動されるアルコールが蓄積される。

【0031】

なお、チャンバ 11 e は血液の DNA 以外の塵埃が溜まるチャンバ、チャンバ 11 f はチャンバ 11 l、11 m の第 1、第 2 の抽出洗浄剤の廃液が溜まるチャンバ、チャンバ 11 r は第 1、第 2 の洗浄剤の廃液が溜まるチャンバであり、チャンバ 11 k、11 o、11 t は溶液がノズル入口に流れ込まないために設けたブランクのチャンバである。

【0032】

図 7 は生化学反応カートリッジ内での溶液の移動や種々の反応を制御する処理装置である。テーブル 22 は生化学反応カートリッジをセットする場所であり、テーブル 22 上には、カートリッジ内で検体からの DNA などを抽出する際に作動させる電磁石 23、検体からの DNA を PCR などの方法で増幅させる際に温度制御するためのペルチェ素子 24、増幅した検体 DNA とカートリッジ内部にある DNA マイクロアレイ上の DNA プローブとの間でハイブリダイゼーションを行う際と、ハイブリダイゼーションしなかった検体 DNA の洗浄を行う際に温度制御するためのペルチェ素子 25 が配置され、これらは処理装置全体を制御する制御部 26 に接続されている。また、処理装置には、前述したように工具用ニードル 13 をカートリッジ上の所定のチャンバ上に移動し、弁棒を押し下げるためのロボットアーム (不図示)、カートリッジに貼られたバーコードリーダを読み取るためのバーコードリーダ (不図示) が配備されている。

【0033】

図 7 のテーブル 22 の上下には、電動シリンジポンプ 27、28 と、これらのポンプ 27、28 により空気を吐出或いは吸引を行う出入口で複数のポンプノズル 29、30 を片側 10 個ずつ設けたポンプブロック 31、32 が配置されている。また、制御部 26 は検査者が入力を行う入力部 33 に接続されている。

【0034】

電動シリンジポンプ 27、28 とポンプノズル 29、30 の間には、図示しない複数の良く知られた電動切換バルブが配置され、ポンプ 27、28 と共に制御部 26 に接続されている。制御部 26 により、片側 10 個のうち 1 個ずつのポンプノズル 29、30 を選択的にポンプ 27、28 に対して開にしたり、全てのポンプノズル 29、30 を閉にしたりする制御が可能とされている。

【0035】

溶液を溶液貯蔵部分 2 から反応部分 1 に移動して、処理の開始信号を入力すると、反応部分 1 の内部で DNA などの抽出、増幅が行われ、増幅した検体 DNA と反応部分 1 の内部にある DNA マイクロアレイ上の DNA プローブとの間でハイブリダイゼーションと、ハイブリダイゼーションしなかった蛍光標識付きの検体 DNA と蛍光標識の洗浄とが行われる。

【0036】

本実施の形態では、血液を検体とし検査者が注射器により検体入口 2 のゴムキャップを貫通させて血液を注入すると、血液はチャンバ 16 に流れ込む。その後に、検査者は生化学反応カートリッジをテーブル 22 に置き、図示しないレバーを操作して、図示しない機構によりポンプブロック 31、32 を図 7 の矢印の方向に移動させると、ゴムキャップを貫通してポンプノズル 29、30 が反応部分 1 のノズル入口 4 に挿入される。

【0037】

図 6 で説明したように、ノズル入口 4 が生化学反応カートリッジの両側の 2 つの面に集中しているので、電動シリンジポンプ 27、28、電動切換バルブ、ポンプノズル 29、30 を内蔵したポンプブロック 31、32 の形状、配置が単純になる。更に、必要なチャ

ンバや流路を確保しながら、ポンプブロック 31、32 でカートリッジを同時に挟み込むという単純な動作だけで、ポンプノズル 29、30 を挿入することができ、ポンプブロック 31、32 の構成も簡単なものになる。そして、ノズル入口 4a ~ 4t を全て同じ高さ、即ち直線状に配置すると、ノズル入口 4a ~ 4t に接続する流路 14a ~ 14t の高さが全て同じになり、流路 14a ~ 14t の作製が容易になる。

【0038】

また、図 7 の処理装置で、n 個の生化学反応カートリッジ用にポンプブロック 31、32 を n 倍に長くした構成にすれば、n 個のカートリッジを直列に並べることによって、n 個のカートリッジに対して必要な工程を同時に行うことができ、構成は極めて簡単ながら多数のカートリッジに対して生化学反応を行わせることができる。

【0039】

検査者はカートリッジを処理装置にセットし、次に入力部 33 で処理開始の命令を入力すると、まず、処理装置のバーコードリーダー（不図示）によりカートリッジに貼られたバーコードが読み込まれる。装置には予めそれぞれの種類のカートリッジについて必要とされる処理シーケンスが記憶されており、読み取られたバーコードによりカートリッジの種類が判別されるとそのカートリッジに必要な処理の内容と手順が自動的に決定され処理が開始される。バーコードが読み取れない時、または、読み込まれたバーコードが所定のコードでない時には、操作者が入力部 33 により処理のステップをマニュアル入力することもできる。

【0040】

図 8 は本実施の形態の処理装置における処理手順の一例を説明するフローチャート図である。まずステップ S1 で、溶血剤 1 の入った溶液貯蔵用チャンバ 6a について図 4、図 5 で説明したように溶液の流し込みと密閉の工程を行い、溶血剤 1 を反応部分のチャンバ 11a に移動する。次のステップ S2 で、制御部 26 はノズル入口 4a、4k のみを開にし、電動シリンジポンプ 27 から空気を吐出し、ポンプ 28 から空気を吸引してチャンバ 11a の第 1 の溶血剤を血液の入ったチャンバ 16 に流し込む。このときに、溶血剤の粘性や流路の抵抗によるが、ポンプ 28 からの空気の吸引を、ポンプ 27 からの空気の吐出開始 10 ~ 200 m 秒後に開始するように制御すると、流れる溶液の先頭で溶液が飛び出すことがなく溶液が円滑に流れる。

【0041】

このように、空気の供給、吸引のタイミングをずらして、加圧、減圧を制御すれば溶液を円滑に流すことができるが、電動シリンジポンプ 28 からの空気の吸引を、ポンプ 27 からの空気の吐出開始時からリニアに増加させるなど、細かな制御を行えば、更に円滑に流すことが可能になる。また、加圧と減圧の両方を用いることで反応部分 1 内に発生する圧力を軽減することができ、この結果、溶液の移動の途中に溶液を流し込みたくない分岐流路やチャンバがある場合に、そこに流れ込むことを防ぐという効果もある。以下の溶液の移動についても同様である。

【0042】

空気の供給の制御は、電動シリンジポンプ 27、28 を用いることで容易に実現でき、ノズル入口 4a、4o のみを開にし、シリンジポンプ 27、28 で空気の吐出、吸引を交互に繰り返し、チャンバ 6 の溶液を流路 19 に流してその後に戻す動作を繰り返して攪拌を行う。或いは、ポンプ 28 から空気を連続的に吐出し、気泡を発生させながら攪拌してもよい。

【0043】

図 9 は図 6 のチャンバ 11a、チャンバ 16、チャンバ 11k を通る反応部分 1 の断面図であり、ノズル入口 4a にポンプノズル 29 が挿入されて加圧され、ノズル入口 4k にポンプノズル 30 が挿入されて減圧され、チャンバ 11a の第 1 の溶血剤が血液の入ったチャンバ 16 に流れ込む様子を示している。チャンバ 11a は実際は溶液貯蔵部分 2 と連通しているが、便宜上、天井を設けて連通していない図になっている。

【0044】

次のステップS3で溶血剤2の入った溶液貯蔵用チャンバ6bについてもステップS1と同様に溶液の流し込みと密閉の工程を行い、溶血剤2を反応部分のチャンバ11aに移動する。図8において、次のステップS4でノズル入口4b、4kのみを開にし、同様にしてチャンバ11bの第2の溶血剤をチャンバ16に流し込み、ステップS5で磁性体粒子を6cから11cに移動した後、ノズル入口4c、4kのみを開にし、同様にしてチャンバ11cの磁性体粒子をチャンバ16に流し込む。ステップS4、S6共に、ステップS2と同様にして攪拌を行う。ステップS6では磁性体粒子にステップS2、S4で細胞が溶解して出てきたDNAが磁性体粒子に付着する。

【0045】

そして、ステップS7で電磁石23をオンにし、ノズル入口4e、4kのみを開にし、電動シリンジポンプ28から空気を吐出し、ポンプ27から空気を吸引して、チャンバ16の溶液をチャンバ11eに移動すると、この移動の際に磁性体粒子とDNAが流路19の電磁石23の上で捕捉される。電動シリンジポンプ27、28の吸引、吐出を交互に繰り返して、溶液をチャンバ16、11e間を2回往復させてDNAの捕捉効率を高める。更に回数を増やすと、捕捉効率は一層高まるが、処理時間が余分にかかることになる。

【0046】

このように、磁性体粒子を利用してDNAを、幅1～2mm程度、高さ0.2～1mm程度の小さい流路上で、しかも流れている状態で捕捉するので、極めて効率良く捕捉することができる。捕捉ターゲット物質がRNA或いはタンパク質の場合も同様である。

【0047】

次に、ステップS8で抽出洗浄液1を6lから11lに移動し、ステップS9で電磁石23をオフにし、ノズル入口4f、4lのみを開にし、電動シリンジポンプ28から空気を吐出し、ポンプ27から空気を吸引してチャンバ11lの第1の抽出洗浄液をチャンバ11fに移動する。このとき、ステップS7で捕捉された磁性体粒子とDNAが抽出洗浄液と共に移動して洗浄が行われる。ステップS7と同様にして2回往復した後電磁石23をオンにし、同様にして2回往復させて磁性体粒子とDNAを流路19の電磁石23の上に回収し、溶液をチャンバ11lに戻しておく。

【0048】

ステップS10で、抽出洗浄液2を6mから11mに移動した後、ステップS11で、ノズル入口4f、4mを用いてチャンバ11mの第2の抽出洗浄液に対して、ステップS9と同じ工程を行って更に洗浄する。ステップS12で溶出液を6dから11dに移動し、ステップS13では電磁石23をオンにしたまま、ノズル入口4d、4oのみを開にし、電動シリンジポンプ27から空気を吐出し、ポンプ28から空気を吸引して、チャンバ11dの溶出液をチャンバ17に移動する。

【0049】

このとき、溶出液の作用によって磁性体粒子とDNAが分離し、DNAのみが溶出液と共にチャンバ17に移動し、磁性体粒子は流路19に残り、このようにしてDNAの抽出、精製が行われる。抽出洗浄液が入ったチャンバ11l、11mと洗浄後の廃液が入るチャンバ11fを用意することにより、生化学反応カートリッジ1内でDNAの抽出、精製を行うことが可能になる。

【0050】

次に、ステップS14でPCR用薬剤を6gから11gに移動し、ステップS15でノズル入口4g、4oのみを開にし、電動シリンジポンプ27から空気を吐出し、ポンプ28から空気を吸引して、チャンバ11gのPCR用薬剤をチャンバ17に流し込む。更に、ノズル入口4g、4tのみを開にし、電動シリンジポンプ27、28で空気の吐出、吸引を交互に繰り返し、チャンバ16の溶液を流路20に流して、その後に戻す動作を繰り返して攪拌を行う。そして、ペルチェ素子24を制御して、チャンバ17内の溶液を96℃の温度に10分保持した後、96℃・10秒、55℃・10秒、72℃・1分の工程を30回繰り返し、溶出されたDNAにPCRを行って増幅する。

【0051】

ステップS16では、ノズル入口4g、4tのみを開にし、電動シリンジポンプ27から空気を吐出し、ポンプ28から空気を吸引して、チャンバ17の溶液をチャンバ18に移動する。更に、ペルチェ素子25を制御して、チャンバ18内の溶液を45℃で2時間保ってハイブリダイゼーションを行う。このとき、ポンプ27、28で空気の吐出、吸引を交互に繰り返し、チャンバ18の溶液を流路15tに移動し、その後に戻す動作を繰り返して攪拌しながら、ハイブリダイゼーションを進める。

【0052】

次に、ステップ17で洗浄液1を6hから11hに移動した後、ステップS18で、同じ45℃を保持したまま、今度はノズル入口4h、4rのみを開にし、電動シリンジポンプ27から空気を吐出し、ポンプ28から空気を吸引して、チャンバ18内の溶液をチャンバ11rに移動しながら、チャンバ11hの第1の洗浄液をチャンバ18を通してチャンバ11rに流し込む。ポンプ27、28の吸引、吐出を交互に繰り返して、溶液をチャンバ11h、18、11r間を2回往復させ、最後にチャンバ11hに戻す。このようにして、ハイブリダイゼーションしなかった蛍光標識付きの検体DNAと蛍光標識とが洗浄される。

【0053】

図10は図6のチャンバ11h、チャンバ18、チャンバ11rを通る断面図であり、ノズル入口4hにポンプノズル29が挿入されて加圧され、ノズル入口4rにポンプノズル30が挿入されて減圧され、チャンバ11hの第1の洗浄液がチャンバ18を通して、チャンバ11rに流れ込む様子を示している。チャンバ11hは実際は溶液貯蔵部分2と連通しているが、便宜上、天井を設けて連通していない図になっている。

【0054】

図8において、ステップS19で洗浄液2を6jから11jに移動した後、ステップS20では同じ45℃を保持したまま、ノズル入口4j、4rを用いてチャンバ11jの第2の洗浄液に対して、ステップS10と同じ工程を行って更に洗浄し、最後にチャンバ11jに戻す。このように洗浄液が入ったチャンバ11h、11jと洗浄後の廃液が入るチャンバ11rを用意しているので、生化学反応カートリッジ内でDNAマイクロアレイ21の洗浄を行うことが可能になる。

【0055】

ステップS21でアルコールを6iから11iに移動した後、ステップS22では、ノズル入口4i、4rのみを開にし、電動シリンジポンプ27から空気を吐出し、ポンプ28から空気を吸引して、チャンバ11iのアルコールをチャンバ18を通してチャンバ11rに移動する。その後、ノズル入口4i、4tのみを開にし、ポンプ27から空気を吐出し、ポンプ28から空気を吸引して、チャンバ18内を乾燥させる。

【0056】

この後に、検査者が図示しないレバーを操作すると、図示しない機構によりポンプブロック31、32は生化学反応カートリッジから離れる方向に移動し、ポンプノズル29、30がカートリッジのノズル入口4から外れる。そして、検査者はこのカートリッジを、図示しない良く知られたスキャナなどのDNAマイクロアレイ用読取装置に挿入して測定、解析を行う。

【0057】

本発明の他の実施形態を、次に列挙する。

【0058】

〔実施形態2〕

上記実施例では、カートリッジの識別はバーコードラベルを用いていたが、勿論これに限るものではなく、二次元バーコード、ICチップ、RFID、等を用いることができる。また、カートリッジの高さや長さなど外形的寸法、あるいは、カートリッジの側面や上面・下面につけたくぼみや突起の数、またはその組み合わせなどなど多様な方法によってカートリッジの種類を識別し同様の効果を得ることができる。

【0059】

【実施形態 3】

上記実施例では、カートリッジの識別を行ってその種類に応じた処理ステップを設定していたが、二次元バーコードなどに処理ステップの内容とその順序を示す情報を書き込み、その情報に基づいて処理シーケンスを設定することもできる。反応時間など検査する条件をカートリッジごとに変えたい場合、異なる処理ステップを二次元バーコードに書き込みカートリッジにはりつけることで確実に所望の反応ステップを行うことができる。

【図面の簡単な説明】

【0060】

【図 1】 実施の形態の生化学反応カートリッジの斜視図である。

【図 2】 溶液貯蔵部分の平面断面図である。

【図 3】 保存時の生化学反応カートリッジの一部断面図である。

【図 4】 弁棒を 1 段押し込んだ状態の生化学反応カートリッジの一部の断面図である。

。

【図 5】 弁棒を 2 段押し込んだ状態の生化学反応カートリッジの一部断面図である。

【図 6】 反応部分の平面断面図である。

【図 7】 本実施形態の生化学反応カートリッジ内での溶液の移動や種々の反応を制御する処理装置のブロック構成図である。

【図 8】 処理手順のフローチャート図である。

【図 9】 図 6 の一部のチャンバの断面図である。

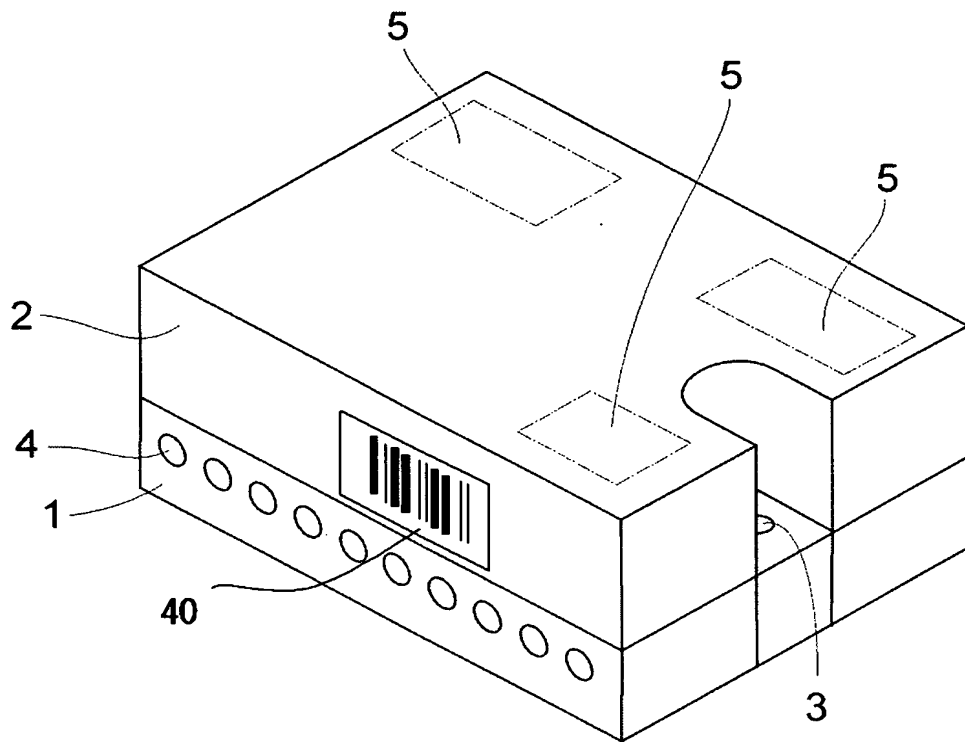
【図 10】 図 6 の一部のチャンバの断面図である。

【符号の説明】

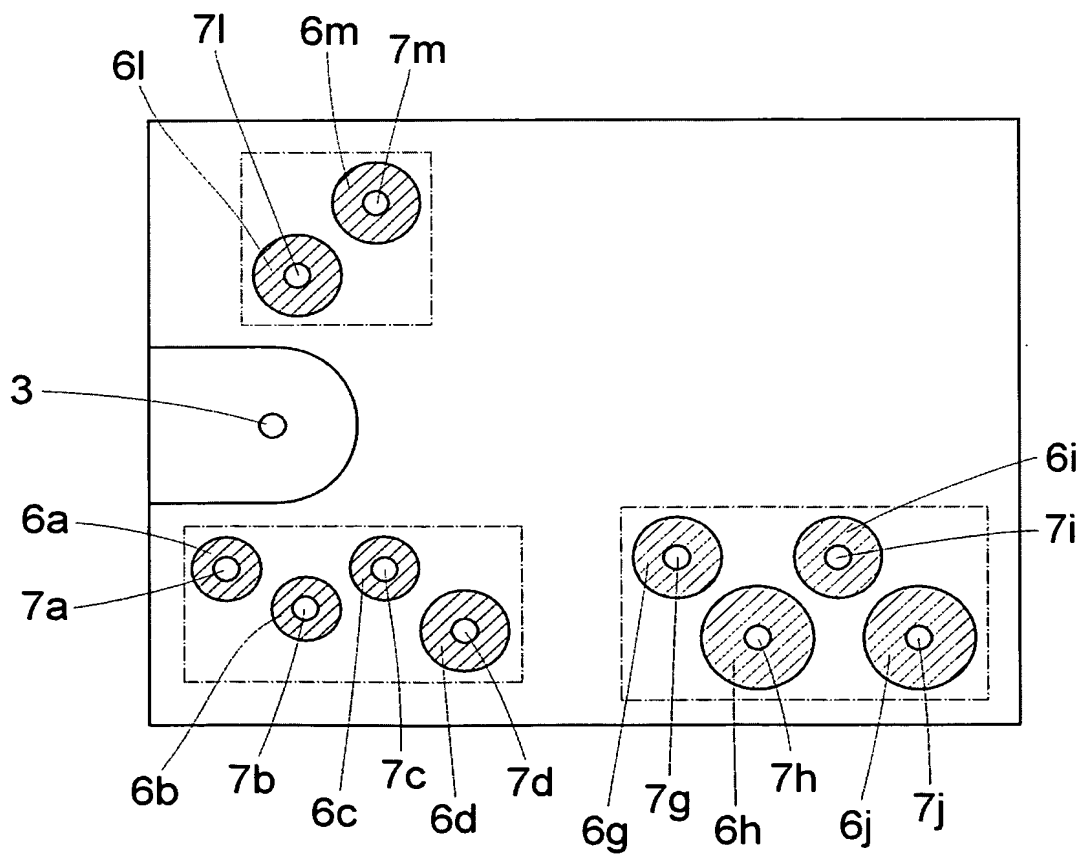
【0061】

- 1 反応部分
- 2 溶液貯蔵部分
- 3 検体入口
- 4 ノズル入口
- 5、10 アルミ箔シート
- 7 弁棒
- 8 切欠き
- 9 Oリング
- 11、16～18 チャンバ
- 13 工具用ニードル
- 15、19、20 流路
- 21 DNAマイクロアレイ
- 22 テーブル
- 26 制御部
- 27、28 電動シリンジポンプ
- 29、30 ポンプノズル
- 31、32 ポンプブロック
- 40 カートリッジ識別用バーコードラベル

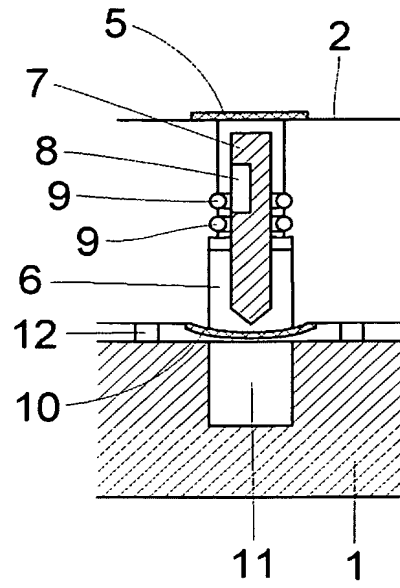
【書類名】 図面
【図 1】



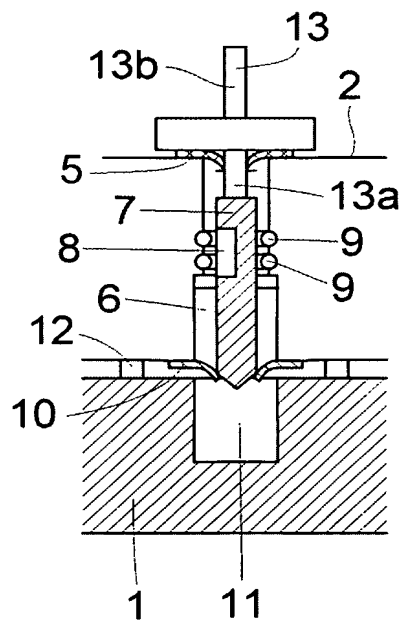
【図 2】



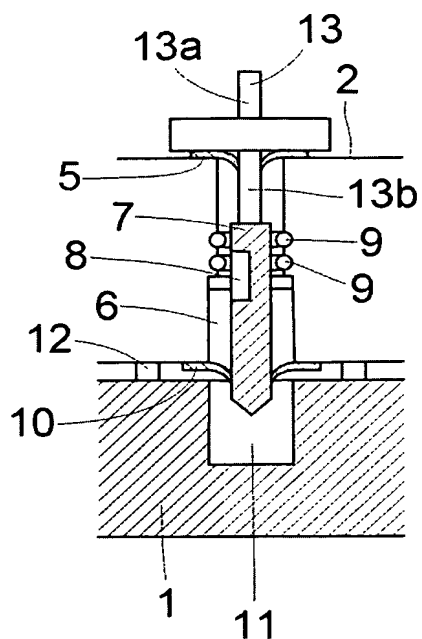
【図 3】



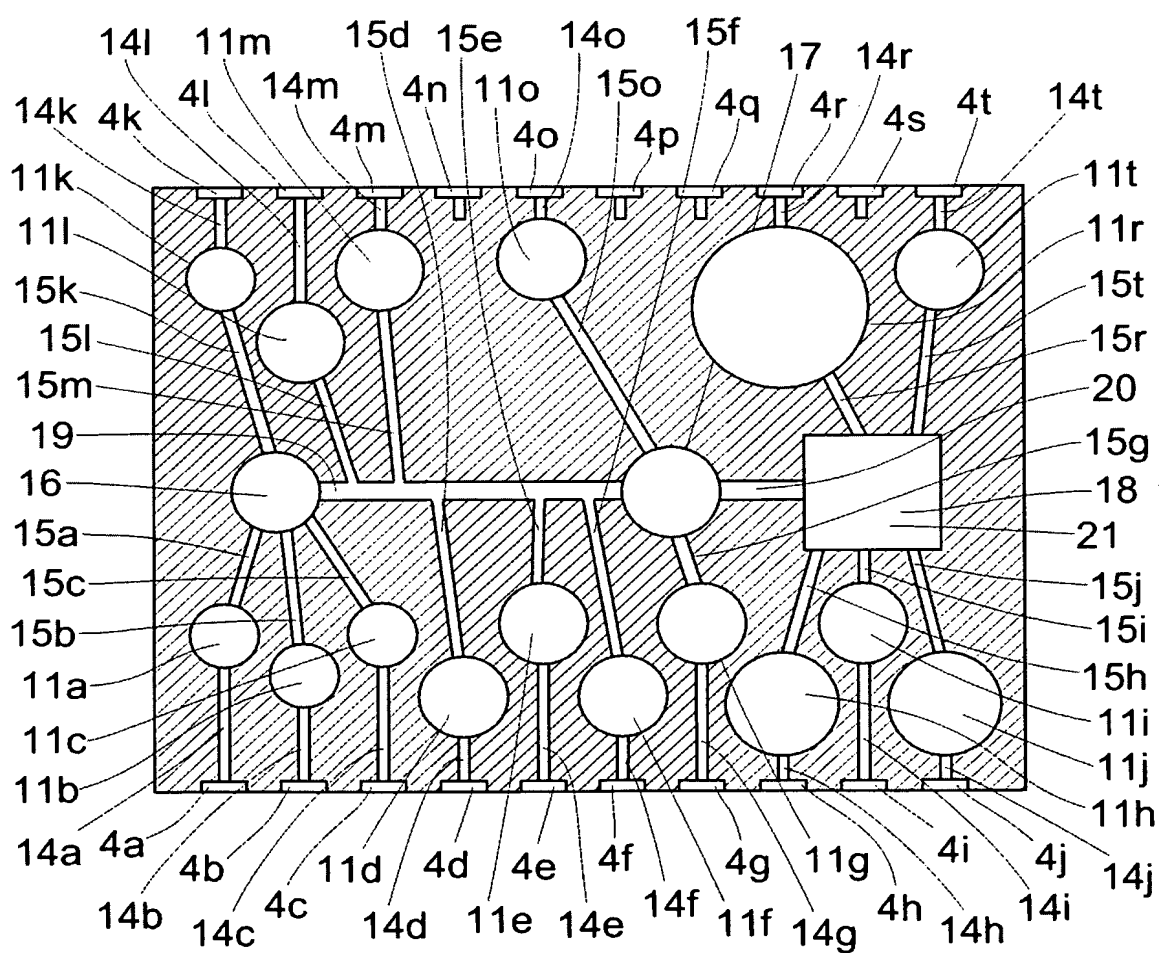
【図 4】



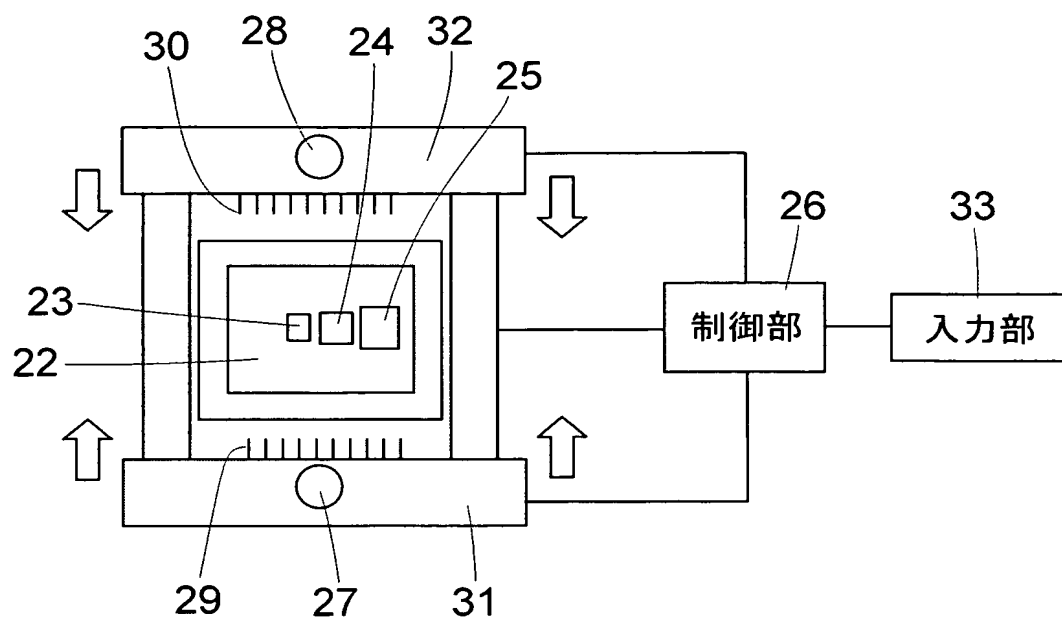
【図 5】



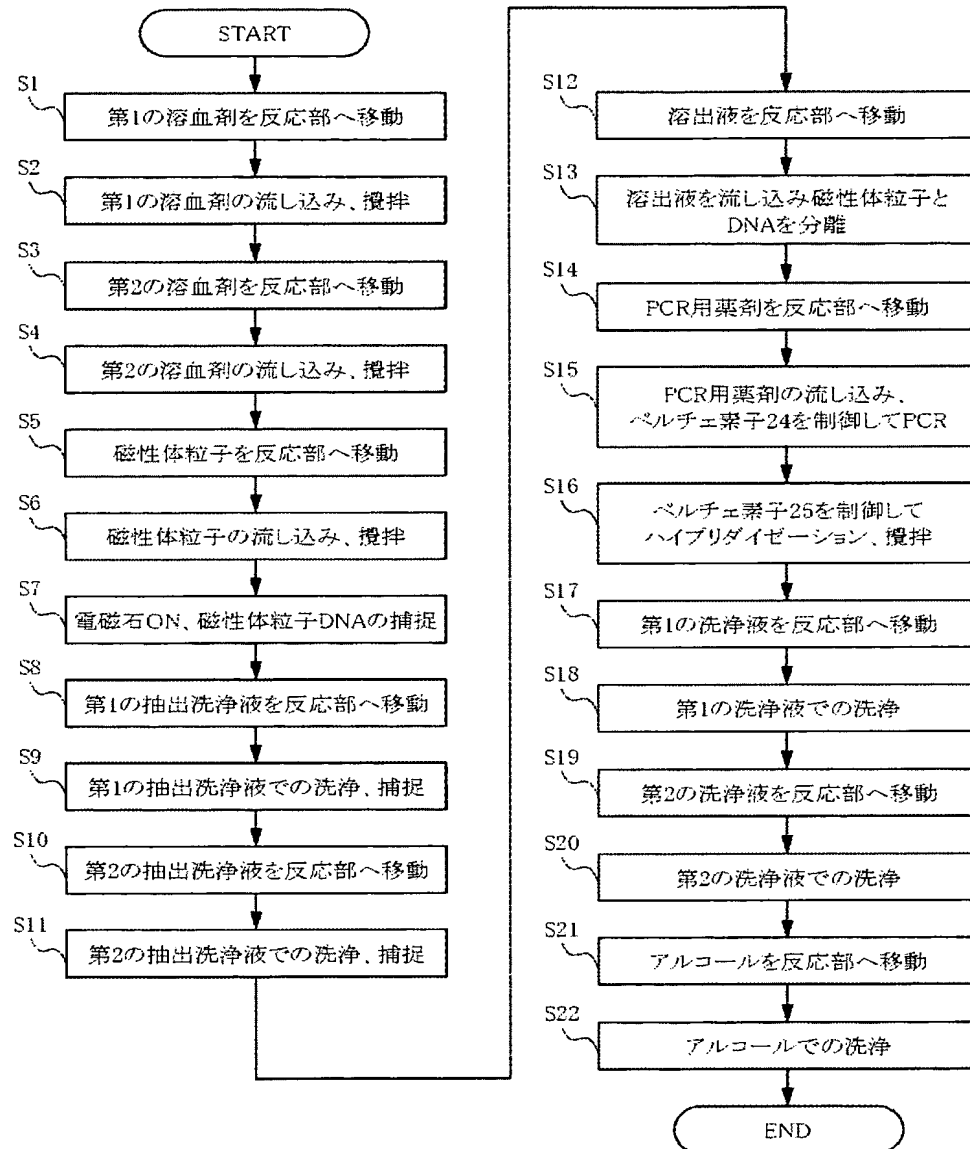
【図 6】



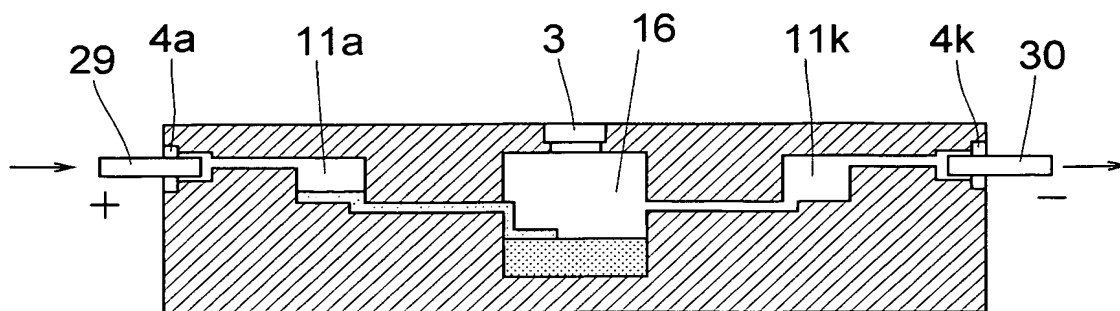
【図 7】



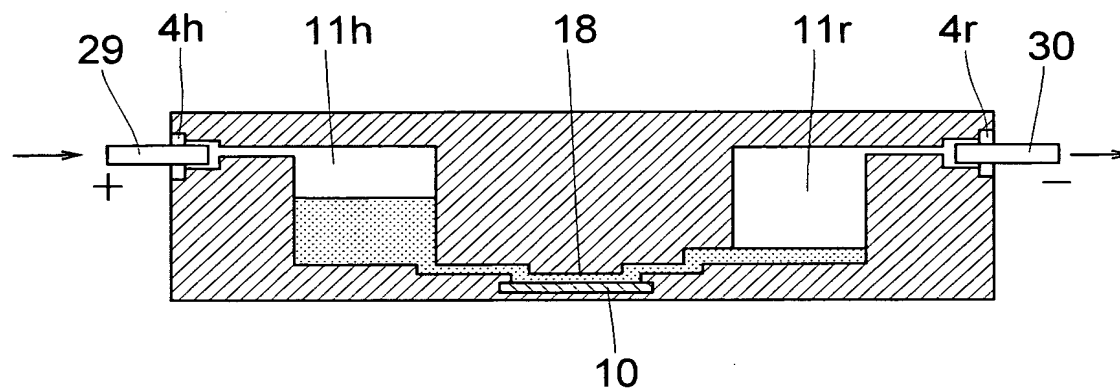
【図 8】



【図 9】



【図 10】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 溶液貯蔵部分のチャンバ内の試薬が反応部分のチャンバに簡単、確実に流れ込むことができるようにする。

【解決手段】 溶液が入った溶液貯蔵部分 2 のチャンバ 6 には切欠き 8 を形成した弁棒 7 が挿入され、2 個の O リング 9 により保持され、溶液チャンバ 6 の下部はアルミ箔シート 1 0 により塞がれている。

検査者が血液等の液体状の検体を検体入口 3 から注入し、処理の開始命令をすると、処理装置に配備されたロボットアームが第 1 の溶液チャンバの弁棒を押し下げてアルミ箔シートを破り、反応部のチャンバに溶液を流しこみ第 1 の溶液の反応処理を行った後に、同様の動作で第 2 の溶液チャンバのアルミ箔シートを破り反応部のチャンバに溶液を流し込み第 2 の溶液の反応処理を行う。

【選択図】 図 4

特願 2 0 0 4 - 0 1 7 0 1 5

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0 0 0 0 0 1 0 0 7]

1. 変更年月日 1 9 9 0 年 8 月 3 0 日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都大田区下丸子 3 丁目 3 0 番 2 号

氏 名 キヤノン株式会社